

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Зюбина Андрея Юрьевича «Спектрофлуорометрия и спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния света в исследованиях биомаркеров социально-значимых заболеваний», представленной на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Зюбина Андрея Юрьевича посвящена актуальной теме - разработке методов исследования молекулярных структур в биологических объектах, основанных на спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния и флуоресцентной спектроскопии. Объектами исследования являлись тромбоциты человека, полученные от здоровых доноров и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, микобактерии штамма *M. tuberculosis* пекинского типа с различными характеристиками и кишечной палочки *E.coli*. Актуальность выполненного исследования не вызывает сомнения, поскольку отвечает ряду направлений «Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 - 2030 годы)», в частности, направлениям «Развитие методов фотоники для применения в технике и медицине», «Фотонные технологии в медицине».

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Научная новизна исследования заключается в получении новых данных о биомаркерах, характеризующие изменения, связанные с тромбоцитарной агрегацией, а также с развитием антибиотикорезистентности микобактерий туберкулеза.

В рамках данной работы впервые получены следующие результаты:

- сопоставлены данные оптической спектроскопии и изменения в структуре клеточной стенки микобактерии в результате действия лекарственных препаратов, в том числе приводящие к антибиотикорезистентности;
- сопоставлены спектры КР и ГКР тромбоцитов с функциональным состоянием этих клеток;
- выполнено математическое моделирование КР-спектра рецептора тромбоцита и частей клеточной стенки микобактерии, по результатам моделирования уточнены экспериментальные данные выявленных маркеров антибиотикорезистентности.

Полученные результаты обладают несомненной научной новизной и оригинальностью, соответствуют мировому уровню исследований в этой области и опубликованы в ведущих научных журналах.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений

Достоверность экспериментально полученных результатов очевидна, поскольку они хорошо согласуются с данными, приведенными в исследованиях других авторов. В работе присутствует подробное описание методов исследования, осуществление которых позволило получить эти результаты.

Так, приведено убедительное экспериментальное и теоретическое подтверждение эффективности созданных автором оптических наносенсоров на плазмонном резонансе. Полученные спектры тестового зонда родамина 6G соответствуют литературным данным. Полученные спектры ГКРС бактериальных клеток и тромбоцитов имеют характерную структуру спектра белка. Автором дается убедительная расшифровка основных характерных пиков.

В работе соискатель широко использует современные статистические методы обработки данных с применением машинного обучения.

Все положения, выносимые на защиту, выводы согласуются с материалами диссертации, следуют из полученных результатов, являются убедительными и хорошо согласующимися с современными данными по исследованиям в области спектроскопии комбинационного рассеяния света в белках.

Основные результаты работы опубликованы в 56 научных работах, из которых 22 – статьи в изданиях, входящих в международные базы данных Web of Science/Scopus, Зарегистрированы 4 патента РФ на изобретение, 11 свидетельств о государственной регистрации программ ЭВМ и баз данных. Результаты исследований представлялись на более чем 20 международных конференциях. Работа поддержана рядом грантов ФЦП, РНФ, а также Совета по грантам Президента РФ для молодых кандидатов наук.

Значимость результатов, полученных в диссертации, для науки и практики

Теоретическая значимость выполненного диссертационного исследования обусловлена разработкой научно-обоснованного подхода к поиску биомаркеров состояния тромбоцитов человека при социально значимых заболеваниях, а также анализу антибиотикорезистентности микобактерий с использованием спектроскопии гигантского рассеяния света.

Практическая значимость исследований обусловлена возможностью создания новых приборов и методов лабораторной диагностики, характеризующих состояние пациентов по анализу тромбоцитов методом ГКРС, а также созданием новых методов оценки антибиотикорезистентности различных штаммов микобактерий.

Общая оценка содержания диссертации:

Диссертация написана в традиционной манере, содержит 5 глав, заключение и список литературы. Общий объем работы составляет 248 страниц, включая 128 рисунков, 61 таблицу и библиографию из 452 наименований. Работа написана академическим языком, читается с интересом. Глава «Литературный обзор» посвящена анализу методов получения наночастиц, эффектов, связанных с наличием плазмонного резонанса при поглощении света, флуоресценции и комбинационном рассеянии. Автор сосредоточил свое внимание на наночастицах, применяемых для получения гигантского комбинационного рассеяния, а также их использования при анализе биологических объектов – клеток и клеточных мембран. В главе «Методика и методология исследований» детально описаны методы получения наночастиц золота и платины, планарных и коллоидных плазмонных оптических сенсоров, протоколы проведения исследований с клетками различной природы с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния света и флуоресцентной спектроскопии, а также методы обработки данных с применением алгоритмов машинного обучения. Две последующие главы посвящены описанию результатов экспериментальных исследований тромбоцитов человека и бактерий. Пятая глава представляет собой результаты математического моделирования спектров комбинационного и гигантского комбинационного рассеяния света элементов рецепторов тромбоцитов.

По результатам изучения диссертации имеются следующие замечания и вопросы:

1. Литературный обзор по методам гигантского комбинационного рассеяния света биологических объектов, на мой взгляд, должен был содержать еще один раздел, принципиальный для работы соискателя, а именно, анализ SERS-подложек, потенциально пригодных для выполнения указанной задачи. Несмотря на отсутствие указанного анализа, диссертантом использовались в работе различные подложки собственной разработки. Причем, судя по данным приведенным в работе, коэффициент эффективности авторских подложек (10^4) на несколько порядков ниже коммерчески доступных образцов (10^6 - 10^7).
2. В таблице 5 соискатель приводит значение экспериментально измеренного коэффициента эффективности ГКРС (10^4), однако данные измерений и методика измерений автором не приводятся.
3. В тексте диссертации имеется ряд стилистических и технических неточностей, затрудняющих восприятие материала, например, «интенсивность спектра комбинационного рассеяния света имеет малую концентрацию» (с. 81), «общая интенсивность анализируемого красителя» (там же), на с. 79 автор отсылает нас к рисунку

48 со спектрами ГКРС, однако фактический номер рисунка - 32, далее следует отсылка к рисунку 51, а фактический номер рисунка - 33. Вероятное заимствование фраз из отчетов выполненных автором проектов привело к досадным и нелепым предложениям, например, на с. 96 указано: «За время реализации второго года проекта было зарегистрировано 1353 КР и ГКР спектров от 146 бактериальных клеток от штаммов».

4. На рисунке 32 приведены спектры ГКРС родамина 6G при возбуждении лазером с длиной волны 532 нм, а в таблице - амплитуды максимумов некоторых характеристических линий для сравнения эффективности различных участков подложек. Однако и спектры, и амплитуды приведены без учета вклада в сигнал флуоресценции красителя, которая для различных случаев имела от 10% до 50% от общего сигнала.

5. На рисунке 33 приведены спектры родамина 6G при ГКРС при накачке различными лазерами, для сравнения приведена абсолютно прямая линия «контроля», полученная без использования SERS подложек. При этом автор утверждает, что амплитуда в контроле не превышает 4 ед. Из приведенных данных невозможно понять, речь идет о шуме или авторы «спрятали» спектр КР красителя, а именно этот спектр позволил бы оценить реальный коэффициент эффективности подложек.

6. В начале третьей главы автор отсылает нас к методике изготовления шероховатой поверхности титана в методическую главу диссертации, где якобы имеется ее подробное описание, однако методическая глава не содержит этого описания, а только ссылку на работу автора за номером 368.

7. Необходимы пояснения, почему в таблице 9 в качестве рабочей концентрации указано 1000-кратное разведение по сравнению с величиной, указанной как «концентрация, рекомендованная для лечения», какое биологическое влияние оказывает такое существенное уменьшение действующей дозы лекарственных препаратов?

8. В работе выявлены спектральные маркеры ответа на антитромбоцитарную терапию, а также маркеры антибиотикорезистентности микобактерий, что вызывает вопрос: выполнялась ли автором оценка чувствительности и специфичности разрабатываемого метода?

Автореферат диссертации хорошо структурирован, дает полное представление о выполненной работе. Однако и он содержит ряд технических недочетов. Так, рисунок 1А не имеет расшифровок обозначений аббревиатур по осям. Аббревиатура на английском языке РСА, приведенная в подписи к рисунку, не расшифрована. Язык подписей осей многих диаграмм, а также легенд не соответствует языку, на котором написана диссертация. В тексте автор одно и то же явление обозначает то русской аббревиатурой (ГКРС или ГКР), то английской (SERS), комбинационное рассеяние света обозначено то (КР), то (КРС).

Однако все указанные технические недочеты не снижают общего, сугубо положительного впечатления о выполненном диссертационном исследовании.

Заключение

На основании анализа диссертации Зюбина Андрея Юрьевича «Спектрофлуорометрия и спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния света в исследованиях биомаркеров социально-значимых заболеваний», считаю, что она является законченным научно-квалификационным трудом, решающим крупную научную проблему в области биофизики, обладает высокой актуальностью, научной новизной, несомненной теоретической и практической значимостью, потенциалом к внедрению полученных результатов, полностью соответствует паспорту научной специальности «биофизика».

Диссертация удовлетворяет всем требованиям пп. 9–11, 13–14 действующего «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденном постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в текущей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор - Зюбин Андрей Юрьевич - заслуживает присуждения ему учёной степени доктора физико-математических наук по специальности 1.5.2. — Биофизика.

Я, Салмин Владимир Валерьевич, даю свое согласие на обработку моих персональных данных в рамках подготовки аттестационных документов соискателя в соответствии с Приказом Минобрнауки РФ № 662 от 1 июля 2015 года.

Доктор физико-математических наук
по специальностям 01.04.21 - лазерная физика,
03.01.02 - биофизика, доцент,
профессор кафедры физической химии
федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования
«Московский физико-технический институт
(национальный исследовательский университет)»


Салмин Владимир Валерьевич

Российская Федерация, 141701, Московская область,
г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9
Телефон: +7-913-832-68-12
E-mail: vsalmin@gmail.com

« 1 » сентября 2025 г.

Подпись д.ф.-м.н., доц. В.В. Салмина заверяю

адм. кач.
Короблева О.А.
Салмин

